

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/004564

International filing date: 15 March 2005 (15.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-080520  
Filing date: 19 March 2004 (19.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 28 April 2005 (28.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2 0 0 4 年 3 月 1 9 日

出 願 番 号  
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 0 8 0 5 2 0

パリ条約による外国への出願  
に用いる優先権の主張の基礎  
となる出願の国コードと出願  
番号

The country code and number  
of your priority application,  
to be used for filing abroad  
under the Paris Convention, is

J P 2 0 0 4 - 0 8 0 5 2 0

出 願 人  
Applicant(s): 株式会社ニチレイ

2 0 0 5 年 4 月 1 3 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



【書類名】	特許願
【整理番号】	P04-0217
【提出日】	平成16年 3月19日
【あて先】	特許庁長官 殿
【国際特許分類】	A61P 3/00 A61P 3/06
【発明者】	
【住所又は居所】	千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社 ニチレイ 加工食品 カンパニー研究開発部内
【氏名】	青木 仁史
【発明者】	
【住所又は居所】	千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社 ニチレイ 加工食品 カンパニー研究開発部内
【氏名】	花村 高行
【発明者】	
【住所又は居所】	千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社 ニチレイ 加工食品 カンパニー研究開発部内
【氏名】	間山 千郷
【特許出願人】	
【識別番号】	000134970
【氏名又は名称】	株式会社 ニチレイ
【代理人】	
【識別番号】	100091096
【弁理士】	
【氏名又は名称】	平木 祐輔
【選任した代理人】	
【識別番号】	100096183
【弁理士】	
【氏名又は名称】	石井 貞次
【選任した代理人】	
【識別番号】	100118773
【弁理士】	
【氏名又は名称】	藤田 節
【選任した代理人】	
【識別番号】	100101904
【弁理士】	
【氏名又は名称】	島村 直己
【手数料の表示】	
【予納台帳番号】	015244
【納付金額】	21,000円
【提出物件の目録】	
【物件名】	特許請求の範囲 1
【物件名】	明細書 1
【物件名】	図面 1
【物件名】	要約書 1
【包括委任状番号】	9913335

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有する血糖値上昇抑制剤。

【請求項 2】

アセロラ葉抽出物および／またはその処理物がポリフェノールを含有する請求項 1 に記載の血糖値上昇抑制剤。

【請求項 3】

アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有する A G E 生成阻害剤。

【請求項 4】

アセロラ葉抽出物および／またはその処理物がポリフェノールを含有する請求項 3 に記載の A G E 生成阻害剤。

【請求項 5】

糖尿病および／または糖尿病合併症の治療または予防に用いるための、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の血糖値上昇抑制剤または A G E 生成阻害剤。

【請求項 6】

食品に添加するための、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の血糖値上昇抑制剤または A G E 生成阻害剤。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の血糖値上昇抑制剤または A G E 生成阻害剤を含有する食品。

【請求項 8】

アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を含有する食品。

【書類名】明細書

【発明の名称】アセロラ葉抽出物を含む血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤ならびにそれらを含む食品

【技術分野】

【0001】

本発明は、血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤に関する。

【背景技術】

【0002】

近年の食生活やライフスタイルの変化に伴い、糖尿病患者は増加傾向にある。現在のわが国の糖尿病患者は700万人にのぼり、糖尿病の予備軍を含めると、1500万人に達するといわれている。

【0003】

糖尿病とは、インスリンというホルモンの作用不足によって高血糖状態が長く続くという代謝疾患群である。高血糖状態が続くと、神経障害、白内障、腎障害、網膜症、関節硬化症、アテローム性動脈硬化症、糖尿病性壊疽等の種々の合併症を発症することがある。合併症は主に、患者の血液中のタンパク質が糖と結合する非酵素的糖化が原因とされる血管障害と、糖が代謝されるときに生じるソルビトールの蓄積によって細胞が破壊されることが原因とされる神経障害とに分かれる。タンパク質が糖と結合して形成された糖化蛋白質は、さらに反応が進むと蛋白糖化反応最終産物（Advanced Glycation Endproducts；AGE）と呼ばれる化合物を形成する。AGEは血管内皮細胞にある特異的な受容体（RAGE）に結合して糖尿病血管障害の発症に寄与すると考えられている。

【0004】

このため、血糖値の上昇を抑制すること、およびAGEの生成を阻害することが、それぞれ糖尿病および糖尿病合併症を治療・予防する方法の一つと考えられる。

【0005】

これに関して、従来より、糖尿病および糖尿病合併症の治療・予防のための多くの薬剤が開発されている。

【0006】

例えば、食後に血糖値が上昇して異常値を示す糖尿病患者に投与するための血糖値上昇抑制剤や、血糖値が上昇しないように抑制するために炭水化物の消化吸收阻害をする $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬が開発されている。代表的な $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤として、ボグリボースやアカルボースが知られている。また、AGE生成阻害剤として、例えば、カルボニル試薬であるアミノグアニジンが知られており、抗糖尿病薬や抗糖尿病合併症薬として注目され様々な臨床実験が行われている。

【0007】

しかし、これらの薬剤は、効果が強力である一方、服用したときの腹部膨満感、他の血糖降下薬との併用による低血糖状態の誘引、吐き気や頭痛等、患者に対する様々な副作用が問題となる。

【0008】

これに対して、効果は穏やかであるが、副作用の問題はないとされる天然の成分由来の薬剤も開発されている。天然成分由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤としては、シソ抽出物（特許文献1）、マテ葉抽出物（特許文献2）、羅布麻葉抽出物（特許文献3）、枇杷葉抽出物（特許文献4）などが知られている。また、天然成分由来のAGE生成阻害剤として、例えばワイルドライス等の米類からの抽出物を用いた抗糖尿病活性物質および抗糖尿病合併症活性物質とその製造方法（特許文献5）等が知られているが、まだ数は少ない。

【0009】

一方、アセロラはミカン目キントラノオ科ヒイラギトラノオ属の熱帯果実で、カリブ海諸島を原産としている。アセロラ果実は、現在では世界各国で飲料や健康食品として用いられている。しかしながら、アセロラ葉に含まれる有用物質の検討がされた例はない。ア

セロラ葉は未利用資源であり、工業的価値を見出すことが望まれている。

【特許文献1】特開2000-102383号公報

【特許文献2】特開2003-146900号公報

【特許文献3】特開2002-053486号公報

【特許文献4】特開2003-128571号公報

【特許文献5】特許第3334016号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、天然物由来の血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤ならびにそれらを含む食品を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は以下の発明を包含する。

(1) アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有する血糖値上昇抑制剤。

(2) アセロラ葉抽出物および／またはその処理物がポリフェノールを含有する上記(1)に記載の血糖値上昇抑制剤。

(3) アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有するAGE生成阻害剤。

(4) アセロラ葉抽出物および／またはその処理物がポリフェノールを含有する上記(3)に記載のAGE生成阻害剤。

(5) 糖尿病および／または糖尿病合併症の治療または予防に用いるための、上記(1)～(4)のいずれかに記載の血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤。

(6) 食品に添加するための、上記(1)～(5)のいずれかに記載の血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤。

(7) 上記(1)～(6)のいずれかに記載の血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤を含有する食品。

(8) アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を含有する食品。

【発明の効果】

【0012】

本発明により、有効成分として天然物を含有する血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤ならびにそれらを含む食品が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

本発明は、アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有する血糖値上昇抑制剤ならびにAGE生成阻害剤に関する。本発明で用いられるアセロラ葉が採取されるアセロラの生産地や品種は特に制限されないが、生産地としては、例えば沖縄、ブラジルが挙げられる。本発明の血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤は、天然物であるアセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含んでいるため、副作用を伴う可能性が低い。本発明は未利用資源であるアセロラ葉の有効利用に資する点でも好ましい。

【0014】

抽出に用いられるアセロラ葉は、アセロラの生葉、半乾燥葉、乾燥葉のいずれであってもよい。また抽出に用いられるアセロラ葉は、葉そのものの形態であっても、適宜粉砕または細断されたものであってもよい。

【0015】

アセロラ葉抽出物は、通常の方法により抽出されたものであれば特に限定されない。アセロラ葉抽出物は必要に応じて濃縮されてもよい。本発明にはアセロラ葉抽出物の処理物もまた使用され得る。ここで「アセロラ葉抽出物の処理物」には、アセロラ葉抽出物を各

種クロマトグラフィーを用いて精製したもの等が包含されるが、これらに限定されない。

#### 【0016】

抽出に用いられる溶媒は、水または親水性有機溶媒が好ましい。親水性有機溶媒として、例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、1,4-ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、N,N-ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の有機溶媒が挙げられる。上記の親水性有機溶媒は水との混合物として用いられてもよい。

#### 【0017】

抽出条件は特に限定されないが、好ましい温度範囲は0～120℃、特に20～50℃である。抽出時間は1時間～24時間程度、特に1～2時間程度が好ましく、また抽出に使用する溶媒量は原料に対して質量比で1～20倍量が好ましい。

#### 【0018】

抽出終了後、ろ過あるいは遠心分離により残渣を除くことにより抽出物が得られる。抽出物は、必要により濃縮されてもよい。

#### 【0019】

こうして得られた抽出物には糖分、有機酸等が含まれることがあるため、それらを除く目的で精製工程が行われることも好ましい。精製処理手段としては、順相または逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過等が挙げられる。これらの精製処理手段は適宜組み合わせられてもよい。

#### 【0020】

本発明に使用されるアセロラ葉抽出物および／またはその処理物は、実施例に示される通り、血糖値上昇抑制作用およびAGE生成阻害作用を有する。かかる作用はアセロラ葉抽出物および／またはその処理物にポリフェノールが含まれていることが原因である可能性がある。含まれるポリフェノールの組成は不明であるが、血糖値上昇抑制作用およびAGE生成阻害作用を奏するのに有利な組成であると考えられる。

#### 【0021】

本発明に係る血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤中のアセロラ葉抽出物および／またはその処理物の含有量は、所望の作用が奏される含有量である限りとくに限定されない。本発明に係る血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤はアセロラ葉抽出物および／またはその処理物の他に任意の成分を含んでいてもよい。

#### 【0022】

本発明の血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤は、アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を公知の医薬用担体と組み合わせて製剤化されてもよい。投与形態としては、特に制限はなく、必要に応じ適宜選択されるが、一般には錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤、エリキシル剤等の経口剤、または注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤、軟膏剤等の非経口剤として投与され得る。

#### 【0023】

経口剤は、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等の賦形剤を用いて常法に従って製造される。

#### 【0024】

この種の製剤には、適宜前記賦形剤の他に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を使用することができる。

#### 【0025】

結合剤の具体例としては、結晶セルロース、結晶セルロース・カルメロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、カルメロースナトリウム、エチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、ヒドロキシエチル

セルロース、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、デキストリン、アルファー化デンプン、部分アルファー化デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、プルラン、ポリビニルピロリドン、アミノアルキルメタクリレートコポリマーE、アミノアルキルメタクリレートコポリマーRS、メタクリル酸コポリマーL、メタクリル酸コポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルアルコール、アラビアゴム、アラビアゴム末、寒天、ゼラチン、白色セラック、トラガント、精製白糖、マクロゴールが挙げられる。

#### 【0026】

崩壊剤の具体例としては、結晶セルロース、メチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロース、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、部分アルファー化デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルスターチナトリウム、トラガントが挙げられる。

#### 【0027】

界面活性剤の具体例としては、大豆レシチン、ショ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、セスキオレイン酸ソルビタン、トリオレイン酸ソルビタン、モノステアリン酸ソルビタン、モノパルミチン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、ポリソルベート、モノステアリン酸グリセリン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウロマクロゴールが挙げられる。

#### 【0028】

滑沢剤の具体例としては、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、含水二酸化ケイ素、軽質無水ケイ酸、合成ケイ酸アルミニウム、乾燥水酸化アルミニウムゲル、タルク、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、リン酸水素カルシウム、無水リン酸水素カルシウム、ショ糖脂肪酸エステル、ロウ類、水素添加植物油、ポリエチレングリコールが挙げられる。

#### 【0029】

流動性促進剤の具体例としては、含水二酸化ケイ素、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウムが挙げられる。

#### 【0030】

また、本発明の血糖値上昇抑制剤およびAGE生成阻害剤は、液剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤、エリキシル剤として投与する場合には、矯味矯臭剤、着色剤を含有してもよい。

#### 【0031】

本発明はまた、上記の血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤を含有する食品に関する。本発明の食品は、通常の「食品」だけでなく、菓子類（例えば、飴、トローチ、ジャム、チューイングガム）、飲料（例えば茶を含む清涼飲料水、アルコール飲料）等のようにいかなる形態を有する食品であってもよい。本発明の食品は特定保健用食品（例えば、糖尿病・糖尿病合併症予防食品）にもなり得る。食品中における血糖値上昇抑制剤またはAGE生成阻害剤の含有量は、所望の作用が奏される含有量である限りとくに限定されない。

#### 【0032】

本発明はまた、アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を含有する食品に関する。アセロラ葉を食品に応用した例は未だ存在しない。

#### 【0033】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 【実施例1】

#### 【0034】

アセロラ葉をホモジナイズし3倍量の蒸留水を添加し1時間抽出した。この操作を2回



行い、遠心・ろ過後、凍結乾燥し、再度蒸留水に溶解した。この液をC18カートリッジカラム（Waters Sep-Pak Vac 35cc C18カートリッジカラム）に供し、蒸留水で洗浄後、0.2% TFA／メタノール溶液で溶出を行い、溶出画分を濃縮乾固して抽出精製物を得た。

#### 【0035】

次に、得られた抽出精製物のポリフェノール含量をFolin-Denis法により測定した。即ち、抽出精製物を濃度0.5mg/mlとなるように蒸留水に溶解して得られた液0.1mlと、蒸留水2.9mlと、Folin-Ciocalteu試薬（MERCK製）0.5mlとを混合した。3分間放置後、20%炭酸ナトリウム溶液を加え、さらに60分間放置後、650nmの吸光度を測定した。なお、検量線はカテキンを標準物質として作成した。

その結果、ここで得られた抽出精製物のポリフェノール含量は25%であった。

#### 【実施例2】

##### 【0036】

実施例1で調製されたアセロラ葉抽出精製物について、以下の方法により $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用（マルターゼ阻害作用）を測定した。

##### 【0037】

市販ラット腸管アセトン粉末に9倍量の56mMマレイン酸緩衝液（pH6.0）を添加し、ガラスホモジナイザーで均質化した後、遠心分離を行い、上清を回収し、これを粗酵素液とした。マルターゼ反応は粗酵素液を20倍希釈して使用した。

##### 【0038】

まず、2%マルトース溶液0.6mlに、2mg/mlの濃度の試料溶液0.6mlを添加し、37℃で5分間保温後、粗酵素液を0.6ml添加し、37℃で120分間反応させた。沸騰水中で10分間加熱し酵素を失活させた後、遠心分離を行い、上清のグルコース量をHPLCにより測定した。

##### 【0039】

HPLC条件は以下の通りである。

カラム：Shim-pack CLC-NH<sub>2</sub>カラム（6.0×150mm）

カラム温度：室温

流速：2ml/min

移動相：75%アセトニトリル

検出：RI

##### 【0040】

また、試料溶液の代わりに同量の蒸留水を用いたものをコントロールとし、同様にグルコース量を測定した。コントロールの結果をマルターゼ阻害率0%とした。

##### 【0041】

上記の方法で測定された結果を図1に示す。また、図1ではアセロラ果実を葉と同方法で測定した結果も比較例として示す。

図1から、アセロラ葉の抽出精製物は、マルターゼ阻害活性を有することが示された。

#### 【実施例3】

##### 【0042】

実施例1で調製されたアセロラ葉の抽出精製物について、以下の方法によりAGE生成阻害作用を測定した。

##### 【0043】

16mg/mlの牛血清アルブミン1ml、4Mグルコース1ml、1/15Mリン酸緩衝液（pH7.2）1ml、0.3mg/mlの試料溶液1mlを混合し、60℃で貯蔵した。7日後に、蛋白質とグルコースによって生成されたAGEを蛍光分光計により分析した。蛍光の条件は、AGE初期産物の分析では励起波長325nm・蛍光波長405nm、AGE後期産物の分析では励起波長370nm・蛍光波長440nmとした。また、比較のためにアミノグアニジンを用いた実験も同様に行った。また、試料溶液の代わり

に同量の蒸留水を用いたものをコントロールとし、同様に蛍光分析を行った。コントロールの結果をAGE生成阻害率0%とした。

【0044】

上記の方法で測定された結果を図2に示す。

図2から、アセロラ葉の抽出精製物は、アミノグアニジンと同程度のAGE生成阻害活性を有することが示された。

【図面の簡単な説明】

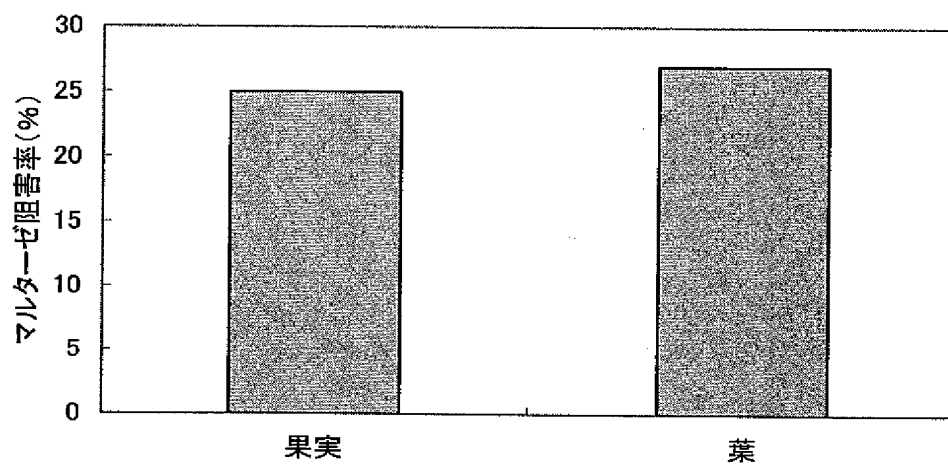
【0045】

【図1】実施例1で調製されたアセロラ葉の抽出精製物について、マルターゼ阻害活性を測定し、アセロラ果実の抽出精製物と比較した結果を示す図である。

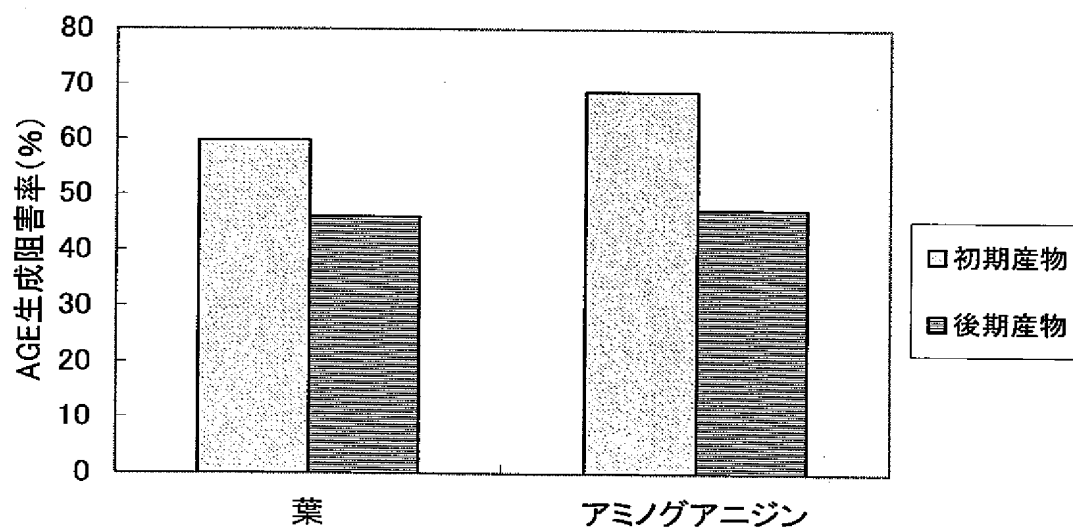
【図2】実施例1で調製されたアセロラ葉の抽出精製物について、AGE生成阻害活性を測定した結果を示す図である。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、天然物由来の血糖値上昇抑制剤およびA G E 生成阻害剤ならびにそれらを含む食品を提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明は、アセロラ葉抽出物および／またはその処理物を有効成分として含有する血糖値上昇抑制剤またはA G E 生成阻害剤ならびにそれらを含む食品に関する。

【選択図】 なし

## 出願人履歴

0 0 0 1 3 4 9 7 0

19910531

住所変更

東京都中央区築地6丁目19番20号

株式会社ニチレイ